

Identificación molecular de los biotipos A y B de *Bemisia tabaci*

Lee A. Calvert

Virólogo Molecular, CIAT

La técnica molecular conocida como RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain Reaction) fue utilizada originalmente para diferenciar los biotipos australianos de *Bemisia tabaci* del biotipo B de esta especie (conocido también como *B. argentifolii*), luego de su introducción en Australia (De Barro y Driver, 1997). Esta técnica utiliza iniciadores de replicación (primers), para producir una serie de fragmentos de DNA de diferente tamaño, mediante el uso de una polimerasa que replica el DNA determinado por los iniciadores de replicación. Este proceso es repetido muchas veces en los aparatos de PCR (termocicladores) gracias a ciclos de alta y baja temperatura que permiten la separación de la doble cadena de DNA, su replicación, y la formación de una nueva doble cadena de DNA. Los patrones de bandas obtenidos son generalmente característicos para moléculas de DNA diferentes.

Para realizar esta técnica, el DNA genómico total es extraído de cada individuo de mosca blanca, de manera individual, según la técnica de Gilbertson y colaboradores (1991). Este método le permite a un operario calificado, procesar unas 16 muestras cada dos horas. Los iniciadores de replicación utilizados, fueron: el H9 (5'TGTAGCTGGG3') y el H16 (5'TCTCAGCTGG3'). Las condiciones de reacción para realizar los ciclos de PCR, fueron: primer ciclo, 94° C por 5 min, 40° C por 2 min, y 72° C por 3 min; seguidos por 39 ciclos de 94° C por 1 min, 40° por 1.5 min y 72° por 2 min. Los productos de PCR son separados en geles de agarosa, y visualizados mediante luz ultravioleta, una vez teñidos con bromuro de etidio.

Los productos de PCR amplificados con el iniciador H9, permiten distinguir entre los biotipos A y B de *B. tabaci*. En el caso del biotipo B, se observan productos de PCR de ca. 950, 800 y 600 pares de bases (pb). Para el biotipo A, se observan productos de PCR de ca. 600, 550 y 350 pb (Figura 1). Se debe tener cuidado en el caso del iniciador H9, cuando se compara el biotipo

B con otras especies de mosca blanca que pueden encontrarse en frijol, específicamente *Trialeurodes vaporariorum*, ya que se pueden presentar patrones similares a los esperados para *B. tabaci*.

En el caso del iniciador H16, se presentan productos de PCR similares en el rango de las 500 a 1000 pb tanto para el biotipo A como para el B. Sin embargo, hay tres productos de PCR característicos de ca. 350, 450 y 550 pb, en el caso del biotipo B (Figura 1). El patrón de la especie *T. vaporariorum* puede ser distinguido más fácilmente de los de *B. tabaci*, con el iniciador H16.

La utilización de la técnica molecular RAPD-PCR descrita aquí para la identificación de biotipos de *B. tabaci*, debe hacerse con ciertas reservas. Primero, se debe tener cuidado en la selección del método de extracción del DNA, el cual debe ser de buena calidad. Los iniciadores utilizados para RAPD-PCR amplifican varios productos de DNA de tamaño similar, para los dos biotipos y para otras especies de mosca blanca presentes en la muestra, dificultando la interpretación de resultados. Por lo tanto se recomienda incluir siempre controles conocidos de ambos biotipos y regirse por los patrones esperados para estos dos biotipos, utilizando siempre los dos iniciadores de replicación descritos aquí.

Referencias

De Barro, P.J., y Driver, F. 1997. Use of RAPD PCR to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera:Aleyrodidae). Austral. J. Entomol. 36:149-152.

Gilbertson, R.L., Rojas, M.R., Russel, D.R., y Maxwell, D.P. 1991. Use of the asymmetric polymerase chain reaction and DNA sequencing to determine genetic variability of bean golden mosaic geminivirus in the Dominican Republic. J. Gen. Virol. 72:2843-2848.

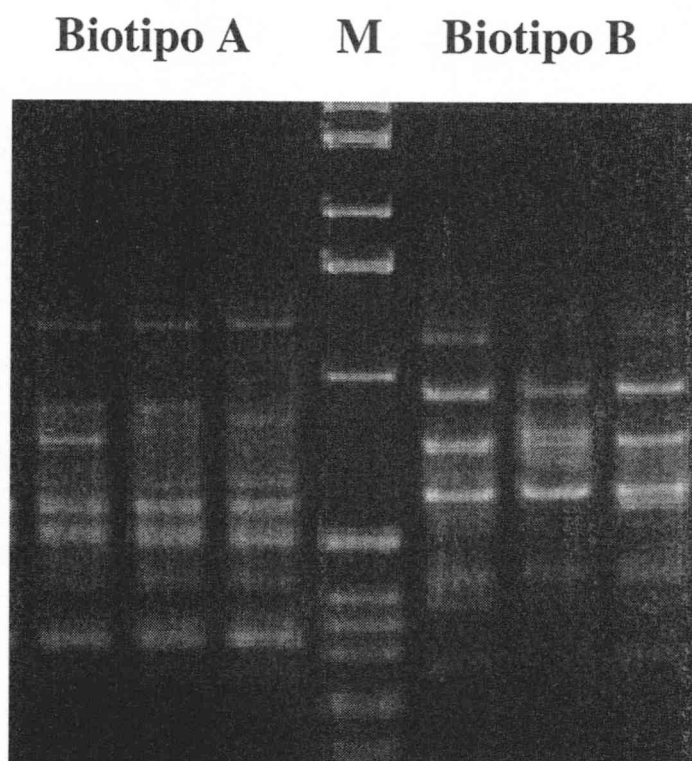


Figura 1. Patrones de los biotipos A y B de *Bemisia tabaci* obtenidos mediante RAPD-PCR.